Nesfatyna-1 – hormon o działaniu pleiotropowym

GRZEGORZ TYMICKI, IWONA PUZIO, MARTA PAWŁOWSKA-OLSZEWSKA

Katedra Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Otrzymano 20.05.2019

Zaakceptowano 28.06.2019

Tymicki G., Puzio I., Pawłowska-Olszewska M.

Nesfatin-1: Pleiotropic hormone

Summary

Nesfatin-1 was first identified in 2006 as an anorexigenic peptide involved in appetite regulation. It is expressed both in the central nervous system and in the peripheral tissues. The location of nesfatin-1 and its co-occurrence with other neurotransmitters in the CNS indicate that its physiological role involves also neuroendocrine regulation and autonomic control of different organs and behavioral responses. It affects the functions of the digestive tract and the cardiovascular system and plays an important role in the regulation of water intake, sleep, and reproductive functions. It plays an important role in the mechanism of metabolic control of the body, regulation of energy balance and body temperature, and development of obesity. Nevertheless, both the main source of nesfatin-1 in the circulation and the exact mechanisms of its functioning are not fully understood. Considering the pleiotropic effect of nesfatin-1, the relationship between the degree of body fatness and the risk of various diseases and the increase in the expression of nesfatin-1 in adipocytes with the development of obesity, it can be assumed that in the near future it will be taken into account as an important factor in the development, and perhaps treatment, of various diseases.

Keywords: nesfatin-1, NUCB2, pleiotropic effect, hormone

W ostatnich latach zidentyfikowano szereg nowych peptydów pochodzenia centralnego, jak i obwodowego, odgrywających istotną rolę w regulacji pobierania pokarmu, funkcji metabolicznych i homeostazie organizmu. Jednym z nich jest nesfatyna-1, zidentyfikowana jako czynnik anoreksygeny w 2006 r. przez Oh-I i wsp. (71). Autorzy ci stwierdzili występowanie nesfatyny-1 w neuronach różnych ośrodków podwzgórza uczestniczących w kontroli pobierania pokarmu oraz jej hamujący wpływ na pobieranie pokarmu. Następne lata przyniosły szereg opracowań dotyczących przede wszystkim roli nesfatyny-1 jako peptydu anoreksygenego, jak również mechanizmów leżących u podstaw tego działania.

Nesfatyna-1 jest 82-aminokwasowym peptydem o masie cząsteczkowej 9,8 kDa, pochodzącym od białka mającego zdolność przyłączania jonów Ca^{2+} i DNA, określanego nukleobindyną (nucleobindin, NUCB) lub NEFA (DNA binding/EF-hand/acidic aminoacid rich region). Stwierdzono istnienie dwóch rodzajów tego białka: nukleobindyna-1 (NUCB1) oraz nukleobindyna-2 (NUCB2) (65). W wyniku potranslacyjnych przemian cząsteczki NUCB2, w obecności konwertaz (PC)-1/3 i PC2, powstają trzy peptydy: N-końcowy peptyd nesfatyna-1 (1-82), nesfatyna-2 (85-163) oraz

C-końcowy peptyd nesfatyna-3 (166-396) (71, 85). Do chwili obecnej stwierdzono, iż jedynie nesfatyna-1 wykazuje aktywność biologiczną związaną m.in. z hamowaniem nocnego pobierania pokarmu przy swobodnym dostępie do pożywienia, po podaniu obwodowym oraz ośrodkowym do komór mózgu (28, 68, 71, 84). Stąd też wywodzi się jej nazwa, gdyż wyraz nesfatyna-1 jest akronimem wyrażenia „NUCB2 – encoded satiety and fat influencing protein” – „NUCB2 – białko kodujące sytość i wpływające na tłuszcz” (85). W strukturze nesfatyny-1 wyróżnia się trzy segmenty: zaczynający się od N-końca i przechodzący do 23 aminokwasu, nazywany N23, środkowy obejmujący aminokwasy od 24 do 53, tzw. M30 oraz segment od 54 do 82 aminokwasu w kierunku C-końca, określany jako C29. Środkowy segment jest opisany jako aktywna część nesfatyny-1 i wykazuje kluczową rolę w fizjologicznych oddziaływaniach (71, 85, 87).

Badania elektrofizjologiczne neuronów ośrodkowego układu nerwowego (OUN) sugerują, że NUCB2/nesfatyna-1 jest ligandem metabotropowego receptora sprzężonego z białkiem $G_{i/o}$. Aktywacja receptora powoduje otwarcie kanałów wapniowych typu L i P/Q i postępowy wzrost stężenia Ca^{2+} w neuroplazmie (10, 47, 70). Indukowane nesfatyną-1 zwiększenie stężenia

Ca^{2+} w neuroplazmie jest jednakże redukowane przez KT5720, specyficzny inhibitor kinazy białkowej A (protein kinase A, PKA), co sugeruje udział tego, zależnego od cAMP, enzymu w procesie transdukcji sygnału w komórkach. Jest to zjawisko dalece nietypowe, gdyż efektem aktywacji białka G_i jest hamowanie cykazy adenylowej, spadek stężenia cAMP i w konsekwencji inhibicja PKA. Jednym z możliwych wyjaśnień tego zjawiska jest sugestia, że nesfatyna-1 jest w stanie aktywować różne szlaki sygnałowe poprzez wiązanie receptora z różnymi białkami G , początkowo aktywując G_i , a następnie stymulując G_s (10), niemniej dotychczas nie sklonowano receptora dla nesfatyny-1. W niektórych neuronach nesfatyna-1 powoduje ich hiperpolaryzację poprzez aktywację zależnych od ATP kanałów potasowych (76).

Ekspresja tkankowa nesfatyny-1

Początkowo ekspresję mRNA i białka NUCB2 stwierdzono w skupiskach neuronów podwzgórza i pnia mózgu myszy i szczurów, takich jak: jądro przykomorowe (paraventricular nucleus, PVN), jądro nadwzrokowe (supraoptic nucleus, SON), jądro łukowate (arcuate nucleus, ARC), boczna część podwzgórza (lateral hypothalamic nucleus, LHA), warstwa niepewna (zona incerta, ZI) i jądra pasma samotnego (solitary tract, NTS) (85). Obecnie wiadomo, że komórki immunopoztywne dla NUCB2/nesfatyny-1 występują także w innych obszarach podwzgórza, śródmózgowia i tyłomózgowia, a mianowicie w: grzbietowo-przyśrodkowych jądrach podwzgórza (dorsomedial hypothalamic nucleus, DMH), okolicy guzowej podwzgórza (tuberal hypothalamic area, THA), jądrze okołokomorowym (periventricular nucleus, PeVN), jądrze Edingera-Westphala, w miejscu sinawym (locus coeruleus, LC), jądrach szwu (raphe nuclei, RN) i grzbietowych jądrach ruchowych nerwów błędnych (dorsal motor nuclei of vagus nerve, DVM) (28, 53). Dodatkowo wykazano immunoreaktywne neurony dla nesfatyny-1 w korze wyspy (mesocortex, MC), jądrach migdałowatych (corpus amygdaloideum, CA), brzuszno-bocznej części rdzenia przedłużonego i w mózdzku szczura (37). Obecność nesfatyny-1 stwierdzono także we współczulnych i przywspółczulnych neuronach przedzwojowych rdzenia kręgowego w odcinku piersiowym, lędźwiowym i krzyżowym (37).

W związku z tym, że nesfatyna-1 jest obecna wyłącznie w cytoplazmie ciał i podstawy dendrytów neuronów mózgowych oraz że nie występuje w żyłakowatościach i zakończeniach aksonów, prawdopodobne jest, że działa jako przekaźnik wewnątrzkomórkowy (10, 28, 37, 63), przy czym nie jest wykluczone, że funkcjonuje również jako przekaźnik zewnątrzkomórkowy. Te przypuszczenia zostały potwierdzone badaniami, w których wykazano obecność nesfatyny-1 w ziarnistościach wydzielniczych neuronów w obszarze jądra PVN u gryzoni (63).

W OUN nesfatyna-1 występuje wspólnie z różnymi neuroprzekaźnikami w obrębie neuronów podwzgórza, w tym przede wszystkim z melatoniną (melatonin, MEL), hormonem koncentrującym melaninę (melanin-concentrating hormone, MCH), z białkiem transkryptu kokainowo-amfetaminowego (cocaine and amphetamine regulated transcript, CART), pro-opiomelanokortyną (pro-opiomelanocortin, POMC), z kinazą m-TOR (mammalian target of rapamycin), wazopresyną (antidiuretic hormone, ADH), oksytocyną (oxytocin, OT), neuropeptydem Y (neuropeptide Y, NPY), hormonem uwalniającym hormon wzrostu (growth hormone-releasing hormone, GHRH), hormonem uwalniającym tyreotropinę (thyrotropin-releasing hormone, TRH), hormonem uwalniającym kortykotropinę (corticotropin-releasing hormone, CRH), hormonem stymulującym melanocyty (α -melanocyte stimulating hormone, α -MSH), somatostatyną i neurotensyną (28, 29, 46, 53, 72). Ponadto w neuronach jądra Edingera-Westphala występuje razem z acetylocholiną i urokortyną 1, a w neuronach rdzenia przedłużonego razem z serotoniną (10, 72). Ekspresję nesfatyny-1 wykazują m.in. serotoninerгіczne neurony jądra błędnego i ciemnego szwu, których aktywacja stymuluje przez receptory β_3 -adrenergiczne adipocyty brunatnej tkanki tłuszczowej (69).

Liczne badania dowiodły, że nesfatyna-1 lokalizuje się również obwodowo. Jej obecność wykazano w tkance tłuszczowej (78), przewodzie pokarmowym (43, 90, 115), jądrach (35), jajnikach i macicy (52), płucach (3), sercu (25) oraz chrząstce stawowej (49). Ponadto wykazano obecność nesfatyny-1 w płynach ustrojowych ludzi i gryzoni, takich jak osocze (60), płyn stawowy (49, 116), ślina (8), mleko matki (7). Oprócz ludzi i gryzoni występowanie nesfatyny-1 stwierdzono również w przewodzie pokarmowym u psów (39) oraz podwzgórzu (30), tkance tłuszczowej (59) i przewodzie pokarmowym świń (100). Jej obecność wykazano także u ryb doskonałokostnych (40, 51, 62) i płazów (82).

Wpływ nesfatyny-1 na funkcje przewodu pokarmowego

Ekspresję mRNA i białka NUCB2/nesfatyny-1 stwierdzono w gruczołach ślinowych, żołądka, jelicie cienkim, jelicie grubym, trzustce, wątrobie i przełyku (27, 39, 90, 98, 100, 115). Komórki endokrynne błony śluzowej żołądka cechują się znacznie wyższym poziomem ekspresji mRNA nesfatyny-1 niż neurony w mózgu (90). Ekspresję nesfatyny-1 w gruczołach żołądkowych stwierdza się w komórkach X/A razem z ekspresją oreksygennego hormonu greliny (90, 91). Nesfatyna-1 i grelina lokalizują się w dwóch różnych populacjach wewnątrzkomórkowych pęcherzyków komórek X/A (90). Duża liczba komórek podstawy gruczołów wykazuje ponadto koekspresję nesfatyny-1 z somatostatyną lub dekarboksylazą histydyny (90). U otyłych osobników z bardzo wysokim wskaźnikiem

Ryc. 1. Plejotropowe oddziaływanie nesfatyny-1 (86)

masy ciała (body mass index, BMI) liczba komórek immunopozytywnych dla nesfatyny-1 w błonie śluzowej żołądka jest znacząco większa, a liczba komórek immunopozytywnych dla greliny jest mniejsza w stosunku do osobników otyłych, ale z niższym BMI (91). Dowodzi to, że ekspresja tych dwóch hormonów w żołądku podlega odmiennej regulacji w warunkach otyłości. Ponadto ekspresja mRNA NUCB2 w komórkach endokrynnych żołądka szczurów ulega znacznemu obniżeniu w następstwie 24-godzinnej głodówki, podczas gdy poziom ekspresji greliny ulega zwiększeniu (89, 90). Potwierdzeniem zależności pomiędzy masą ciała a poziomem ekspresji mRNA i białka nesfatyny-1 w żołądku i dwunastnicy są badania Tian i wsp. (98), które wskazują na pozytywną korelację tych dwóch parametrów. Watanabe i wsp. (104) wykazali z kolei odmienną kinetykę poziomu nesfatyny-1 i greliny we krwi. Sugeruje to, że komórki X/A pełnią ważną rolę w kontroli przyjmowania pokarmu poprzez regulację mechanizmów sekrecji nesfatyny-1 i greliny, a obwodowa nesfatyna-1 odgrywa regulacyjną rolę anoreksygenną w homeostazie energetycznej (90, 104). Z kolei występowanie nesfatyny-1 w gruczołach podśluzówkowych Brunnera dwunastnicy wskazuje, że może ona uczestniczyć w regulacji aktywności enzymów jelitowych i wchłaniania pokarmu oraz ochronie ścian jelit (115).

Nesfatyna-1 ma również istotny wpływ na motorykę przewodu pokarmowego (ryc. 1). Podawana dokomorowo (intracerebroventricular, icv) zmniejsza w sposób dawkozależny spożycie pokarmu i opróżnianie żołądka w fazie ciemnej u myszy i szczurów (38, 88, 107), jak również hamuje motorykę jelit u myszy (5). Bezpośrednie podawanie nesfatyny-1 do ARC, PVN lub CA (44, 86, 103) także redukuje motorykę żołądka u szczurów. Obniżoną kurczliwość żołądka, jak i hamowanie wędrujących kompleksów motorycznych (mirating motor complex, MMC) odnotowano po dożylnym podaniu nesfatyny-1 u psów (104).

Nesfatyna-1 hamuje stymulowane wydzielanie kwasu żołądkowego (ryc. 1) (107). Wykazuje ponadto protekcyjne oddziaływanie na błonę śluzową żołądka (ryc. 1) zmniejszając wydzielanie soku żołądkowego i stopień uszkodzenia tkanek przez szlaki cyklooksygenaza-prostaglandyny, syntaza tlenku azotu-tlenek azotu, aktywację nerwu błędnego i receptorów waniloidowych (54, 93).

Wpływ nesfatyny-1 na funkcje trzustki

Pozytywną reakcję immunohistochemiczną dla NUCB2/nesfatyny-1 opisano w ludzkich i szczurzych komórkach endokrynnych β trzustki, z których jest ona uwalniana przy wzroście poziomu glukozy we krwi (27, 41, 43). Nesfatyna-1 w komórkach β wyka-

zuje koegzystencję z insuliną, jednakże ich wewnątrzkomórkowe rozmieszczenie nie jest identyczne (27). W warunkach fizjologicznych ekspresja nesfatyny-1 w komórkach β ulega znacznie mniejszemu wzrostowi w odpowiedzi na glukozę niż poziom insuliny. Natomiast przy cukrzycy ekspresja nesfatyny-1 w komórkach wysp trzustki oraz jej poziom we krwi ulegają obniżeniu zarówno u ludzi, jak i u szczurów (27, 79). Nakata i wsp. (70) w badaniach *in vitro* wykazali, że nesfatyna-1 zwiększa indukowaną glukozą sekrecję insuliny w komórkach β trzustki myszy poprzez stymulację napływu jonów Ca przez kanały L-Ca niezależnie od PKA i fosfolipazy A2 (phospholipase A2, PLA2). Wzrost stymulowanych nesfatyną-1 sekrecji insuliny i eliminacji glukozy obserwowano także w innych badaniach *in vitro* i *in vivo* (ryc. 1) (41, 79, 102). Riva i wsp. (79) stwierdzili zwiększenie pod wpływem nesfatyny-1 sekrecji glukagonu *in vitro* niezależnie od poziomu glukozy, podczas gdy Voss i wsp. (102) zaobserwowali z kolei hamowanie jego sekrecji (ryc. 1).

Anty-hiperglikemiczne działanie nesfatyny-1 zaobserwowano w badaniach z wykorzystaniem hiperglikemicznych myszy *db/db*, u których dożylne jej podawanie obniżało poziom glukozy we krwi w większym stopniu niż przy jednoczesnym podawaniu z insuliną (92). Jednocześnie nie stwierdzono wpływu nesfatyny-1 na poziom glukozy we krwi po podaniu centralnym. Z kolei u szczurów z indukowaną przez dietę otyłością, icv podanie nesfatyny-1 reguluje glukoneogenezę, hamując wytwarzanie glukozy w wątrobie (109). Nesfatyna-1 może wywoływać taki efekt poprzez zmniejszenie syntezy karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej, będącej enzymem ograniczającym szybkość glukoneogenezy w wątrobie, albo poprzez zwiększenie aktywności insuliny. Wzrost tolerancji glukozy i wrażliwości na insulinę po podaniu obwodowym może być skutkiem m.in. wpływu nesfatyny-1 na aktywność kinazy białkowej B (protein kinase B, PKB/Akt) oraz translokację transportera glukozy GLUT-4 do błony komórkowej w miocytach mięśni szkieletowych i adipocytach (61). Obserwowana zaś u myszy z cukrzycą typu II redukcja masy ciała, stężenia wolnych kwasów tłuszczowych i glukozy we krwi oraz wzrost fosforylacji kinazy białkowej aktywowanej AMP i karboksylazy acetylo-CoA (acetyl-CoA carboxylase, ACC) w miocytach mięśni szkieletowych sugerują, że nesfatyna-1 wpływa na oksydację kwasów tłuszczowych (22).

W podwzgórzu nesfatyna-1 wpływa na pobudliwość neuronów wrażliwych na stężenie glukozy, zaś pobudliwość neuronów uwalniających nesfatynę-1 znajduje się pod wpływem stężenia glukozy i insuliny (ryc. 1) (9, 15, 20, 21, 31). Obwodowe podawanie insuliny i hipoglikemia zwiększają aktywację ARC, LHA, PVN, DMV i ekspresję nesfatyny-1 w NTS i DMV (9, 12). Bardzo niska ekspresja podwzgórzowej nesfatyny-1 stymuluje glukoneogenezę wątrobową oraz obniża wychwyt glukozy przez tkanki (106).

Rola nesfatyny-1 w regulacji bilansu energetycznego i temperatury ciała

W 2010 r. Ramanjaneya i wsp. wykazali ekspresję genu oraz obecność i sekrecję białka NUCB2/nesfatyny-1 w tkance tłuszczowej człowieka i myszy, przy czym ekspresja nesfatyny-1, jak i jej sekrecja były większe w podskórnej tkance tłuszczowej w porównaniu z trzewną tkanką tłuszczową (78). W badaniach *in vitro* stwierdzono ponadto zależność ekspresji/sekrecji nesfatyny-1 ze stopniem dojrzałości adipocytów (78, 95). Ponadto nesfatyna-1, jako adipokina, uczestniczy prawdopodobnie w regulacji adipogenezy (ryc. 1) (77). Ekspresja/sekrecja nesfatyny-1 w mysiej tkance tłuszczowej ulega zwiększeniu przy otyłości indukowanej dietą oraz pod wpływem prozapalnych cytokin i insuliny, natomiast ograniczenie dostępności pokarmu powoduje obniżenie poziomu mRNA, jak i białka nesfatyny-1 (78). Zmiana ekspresji/sekrecji nesfatyny-1 w adipocytach pod wpływem cytokin prozapalnych (IL-6 i TNF- α) oraz leków przeciwzapalnych sugeruje jej udział w procesach zapalnych związanych z otyłością (78). Otyłość jest bowiem utrzymującą się przez długi okres czasu odpowiedzią zapalną o niewielkim nasileniu, której towarzyszą zmiany w sekrecji adipokin, prowadzące do chronicznego subklinicznego zapalenia oraz insulinooporności (75).

W ostatnich latach coraz większe znaczenie w regulacji metabolizmu energetycznego przypisuje się snu i czuwaniu (16, 17). Wyniki badań wskazują na związek zaburzeń snu z poważnymi zaburzeniami metabolicznymi i energetycznymi prowadzącymi do otyłości czy insulinooporności (16, 17). Niektóre peptydy, tj. grelina, leptyna i MCH zaangażowane w regulację przyjmowania pokarmu, wpływają również na sen (36, 81). Ponieważ nesfatyna-1 wykazuje kolokalizację razem z MCH w LHA i THA, jest wielce prawdopodobne, że również może uczestniczyć w regulacji snu (86). Jego i wsp. (48) stwierdzili, że podanie szczurom nesfatyny-1 nie wpływa na czas trwania fazy snu szybko-falowego (Rapid Eye Movement, REM) i fazy snu wolno-falowego (Non-rapid Eye Movement, NREM), przy znaczącym wzroście częstotliwości fal fazy REM. Ponadto hamowanie oddziaływania endogennej nesfatyny-1 przez podanie skierowanych przeciwko niej przeciwciał skraca czas trwania fazy REM przy niezmienionej fazie NREM (48). Z kolei Vas i wsp. (101) stwierdzili, że icv podanie nesfatyny-1 szczurom spowodowało skrócenie fazy REM i wydłużenie NREM (ryc. 1). Wykazano również, że faza REM aktywuje neurony immunoreaktywne dla nesfatyny-1 w THA [48], podczas gdy pozbawienie zwierząt fazy REM skutkuje obniżeniem mRNA i poziomu białka nesfatyny-1 (101).

Bilans energetyczny organizmu uwarunkowany jest zarówno spożywaniem pokarmu, jak i wydatkami energetycznymi. Potwierdzeniem tego jest fakt, że w centralnej kontroli termogenezy bierze udział wiele

neuropeptydów anoreksygennych i oreksygennych, takich jak: CFR, THR i OT w PVN, POMC i CART w ARC, peptyd uwalniający prolaktynę w NTS oraz w jądrze ogonowo-bocznym (24, 56, 58). Nesfatyna-1 wykazuje koekspresję z wszystkimi wyżej wymienionymi neuropeptydami, co sugeruje, że może mieć związek z procesami termoregulacji. Podawana centralnie lub obwodowo powoduje dawkozależny wzrost temperatury ciała, zmieniający się w zależności od drogi podania (55). Dokomorowe podanie nesfatyny-1 zwiększa temperaturę ciała u szczurów, co w konsekwencji zwiększa tzw. suchą utratę ciepła, tj. przez przewodzenie, promieniowanie i konwekcję (105). Efekt ten jest podobny do termogennego działania leptyny, nie obserwuje się jednakże żadnych efektów addytywnych po jednoczesnym podaniu obu peptydów, co wskazuje, że oddziałują one za pośrednictwem podobnych lub tych ścieżek sygnałowych (105). W badaniach Wernecke i wsp. (105) termogeny efekt działania nesfatyny-1 pojawił się na początku 3. godziny od momentu podania i utrzymywał się przez krótki czas, jednak wpływ nesfatyny-1 na temperaturę ciała wydaje się trwać dłużej, ponieważ obserwowano go również przez 48 h i nie był on związany ze spożyciem pokarmu, jak również ze wzrostem aktywności lokomotorycznej (55). Przypuszcza się, że zwiększenie wydatku energetycznego może być częścią fizjologicznego oddziaływania nesfatyny-1, warunkującego ujemny bilans energetyczny (86). Biorąc pod uwagę powyższe wyniki oraz fakt, że stres zimna powoduje wzrost aktywności neuronów NUCB2/nesfatyny-1 w jądrach mózgu szczurów zaangażowanych w adaptację na zimno oraz kolokalizację nesfatyny-1 z THR w neuronach PVN, a także w neuronach jądra gałki bładej i jądrach szwu, które regulują termogenezę brązowej tkanki tłuszczowej i przepływ krwi w skórze, można przypuszczać, iż odgrywa ona istotną rolę w procesach termoregulacji (ryc. 1) (14, 58, 105).

Nesfatyna-1 a otyłość

Wpływ nesfatyny-1 na spożywanie pokarmu oraz przemiany energetyczne stał się przyczynkiem do badania jej roli w długoterminowej regulacji masy ciała. Przeprowadzone w tym zakresie badania genetyczne wykazały, że czynniki zmieniające signaling nesfatyny-1 mogą zwiększać podatność organizmu na rozwój otyłości (ryc. 1). Stwierdzono m.in. polimorfizm trzech pojedynczych nukleotydów genu NUCB2/nesfatyny-1 związany z otyłością, przy czym zależność tę obserwowano tylko u mężczyzn (114), co prawdopodobnie stanowi czynnik ryzyka otyłości u tej płci. Ponadto w badaniach otyłych dzieci i młodzieży zaobserwowano siedem wariantów sekwencji genu NUCB2, których występowanie nie wpłynęło jednakże na poziom krążącej nesfatyny-1 (113). Możliwe jednak jest, że zmiany w oddziaływaniu NUCB2/nesfatyny-1 w OUN mogą zwiększać podatność organizmu na rozwój otyłości. W badaniach Miyata i wsp. (66) stwierdzono, że otyłe

cukrzycowe myszy cechowały się obniżonym poziomem mRNA i białka nesfatyny-1 w podwzgórzu, co mogło przyczynić się do zaobserwowanej u tych zwierząt hiperfagii. Innym czynnikiem przyczyniającym się do rozwoju otyłości może być wrodzony niedobór konwertazy prohormonów, ponieważ wpływa to na zmianę sygnalizacji zachodzącej za pośrednictwem nesfatyny-1 (13).

Dane dotyczące współzależności pomiędzy osoczym stężeniem nesfatyny-1 a BMI są niespójne. Zaobserwowano m.in. niższe stężenie nesfatyny-1 we krwi otyłych osób w porównaniu z osobami o prawidłowej masie ciała (1, 74, 99). Tan i wsp. (96) wykazali ujemną korelację pomiędzy stosunkiem stężenia nesfatyny-1 w płynie mózgowo-rdzeniowym i osoczu a BMI, masą ciała i masą tkanki tłuszczowej. Z kolei Anwar i wsp. (4), Ramanjaneya i wsp. (78), Zhao i wsp. (117) opisali dodatnią korelację między osoczym stężeniem nesfatyny-1 a BMI.

Wpływ nesfatyny-1 na układ sercowo-naczyniowy

Ekspresja nesfatyny-1 jest stwierdzana w różnych jądrach podwzgórza, które uczestniczą w regulacji funkcji układu krążenia, m.in. w ARC, PVN, LHA, SON, NTS, jądrach grzbietowych nerwu błędnego (11, 23, 50, 71). O jej centralnym wpływie świadczy fakt, iż podana do bocznej kory mózgu powoduje wzrost ciśnienia tętniczego krwi u szczurów (ryc. 1) (111). Ponieważ zastosowanie antagonistów receptorów dla melanokortyny i OT znosi wpływ nesfatyny-1 na wzrost ciśnienia krwi, uważa się, że jej działanie hipertensyjne jest powiązane z centralnymi ścieżkami oddziaływania OT i α -MSH (33, 111, 112). Hipertensyjne oddziaływanie nesfatyny-1 jest też prawdopodobnie skutkiem stymulacji nerwowych współczulnych (97).

Nesfatyna-1 może także uczestniczyć w regulacji ciśnienia krwi przez bezpośredni wpływ na funkcje śródbłonna w naczyniach krwionośnych. Dożylnie podanie nesfatyny-1 powoduje zwężenie naczyń krwionośnych wynikające z upośledzenia syntezy cyklicznego guanozynomonofosforanu (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) (108). Przewlekłe obwodowe podawanie nesfatyny-1 zmniejsza ponadto w osoczu stężenie śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) (6). Podskórne podanie nesfatyny-1 powoduje z kolei wzrost średniego ciśnienia tętniczego przez mechanizm zależny od receptorów beta-adrenergicznych (73). Powyższe wyniki wskazują, iż nesfatyna-1 pochodzenia podwzgórzowego może nie być głównym czynnikiem w systemowej regulacji ciśnienia krwi.

Ekspresja zarówno mRNA, jak i białka NUCB2/nesfatyny-1 została stwierdzona w mięśniu sercowym u myszy i człowieka, jak również *in vitro* w kardiomiocytach, w stężeniach podobnych do tych obserwowanych w żołądku i mózgu (25). Ponadto kardiomiocyty mogą uwalniać nesfatynę-1 (25). Stężenie nesfatyny-1

w sercu, podobnie jak we krwi obwodowej, jest pod wpływem diety (25, 78). Przy żywieniu dietą wysokotłuszczową poziom mRNA i białka nesfatyny-1 w tkankach przedsionków ulega zwiększeniu i jest on skorelowany z zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie oraz stężeniem krążącej nesfatyny-1. Wysoki poziom krążącej nesfatyny-1 jest związany ze wzrostem skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi oraz rytmu serca (ryc. 1) (80). Biorąc pod uwagę fakt, iż tkanka tłuszczowa jest źródłem nesfatyny-1, a wielkość sekrecji jest związana z dietą (78), nesfatyna-1 może odgrywać istotną rolę w oddziaływaniu otyłości na rozwój chorób układu sercowo-naczyniowego (25).

Z drugiej strony, stężenie nesfatyny-1 w tkankach serca ulega obniżeniu w warunkach niedokrwienia (3). U pacjentów z ostrym zawałem serca osoczowe stężenie nesfatyny-1 we krwi jest mniejsze niż u osób z chorobą wieńcową serca lub dusznicą bolesną (18). Niektórzy badacze przypuszczają, iż nesfatyna-1 odgrywa rolę protekcyjną, ograniczając rozległość zawału serca oraz poprawiając aktywność skurczową kardiomiocytów (3). To protekcyjne oddziaływanie najprawdopodobniej zachodzi poprzez wpływ na ATP-zależne kanały potasowe, kinazę białkową C (protein kinase C, PKC) oraz kanały L-Ca (3, 6). Kardiomiocyty są bardzo wrażliwe na oddziaływanie nesfatyny-1, niemniej doniesienia literaturowe odnośnie do jej wpływu na czynność kardiomiocytów nie są do końca jednoznaczne. Dodatni wpływ lusitropowy obserwowano przy podawaniu małych dawek egzogennej nesfatyny-1, zaś ujemny przy większych (3). Dawkozależny ujemny wpływ inotropowy został stwierdzony przez Angelone i wsp. (3), zaś dodatni przez Mazza i wsp. (64) (ryc. 1).

Rola nesfatyny-1 w regulacji procesów rozrodczych

Dojrzewanie płciowe i płodność są powiązane z wielkością rezerw energetycznych organizmu i znajdują się pod kontrolą kluczowych czynników kontrolujących apetyt (26, 45). Biorąc pod uwagę fakt, iż nesfatyna-1 jest hormonem anoreksygennym, wielce prawdopodobny jest jej wpływ na oś reprodukcyjną. Niektóre ośrodki podwzgórza – ARC, PVN, SON i LHA – są odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy energetycznej i osmotycznej organizmu, jak również uczestniczą w centralnej regulacji procesów rozrodczych z dojrzewaniem płciowym i behawiorem seksualnym łącznie (33). Ekspresja nesfatyny-1 w tych jądrach sugeruje jej uczestnictwo w regulacji tych fizjologicznych procesów. Badania Garcia-Galiano i wsp. (33) wskazują, że nesfatyna-1 działająca centralnie może być zaangażowana w regulację dojrzewania płciowego u osobników płci żeńskiej. Osiągnięcie dojrzałości płciowej jest związane ze znacznym wzrostem mRNA NUCB2/nesfatyny-1 w LHA, PVN i SON oraz trzykrotnym wzrostem zawartości białka NUCB2/nesfatyny-1 (33, 34). Prawdopodobnie ma to znaczenie fizjologiczne,

ponieważ podanie icv NUCB2/nesfatyny-1 stymuluje uwalnianie GnRH (gonadotropin-releasing hormone, gonadotropina), hormonu luteinizującego (luteinizing hormone, LH) i hormonu folikulotropowego (follicle-stimulating hormone, FSH) u samic szczurów w okresie dojrzewania, natomiast hamowanie oddziaływania hormonu na neurony podwzgórza przez icv podanie anty-NUCB2 opóźnia dojrzewanie u samic szczurów, co objawia się m.in. obniżeniem masy jajników oraz poziomu LH we krwi (34) (ryc. 1). Krótkoterminowe głodzenie powoduje bardzo duży wzrost (ok. 9 razy) wydzielania gonadotropin w odpowiedzi na nesfatynę-1 (34). W warunkach ujemnego bilansu energetycznego, spowodowanego krótkotrwałym głodzeniem lub utrzymującym się niedożywieniem, obserwuje się znaczący spadek poziomu zarówno mRNA, jak i białka NUCB2/nesfatyny-1 w podwzgórzu u samic szczurów w okresie dojrzewania. Powyższe badania wskazują na miejscową, metaboliczną i powiązaną ze stopniem rozwoju regulację ekspresji NUCB2/nesfatyny-1 w podwzgórzu w czasie dojrzewania (34). Nesfatyna-1 prawdopodobnie uczestniczy także w regulacji sekrecji gonadotropin u osobników dojrzałych płciowo, czego potwierdzeniem jest wpływ wysokich dawek nesfatyny-1 na wzrost stężenia LH i FSH u samców szczurów (94), przy braku jednakże wpływu centralnie oddziałującej nesfatyny-1 na poziom gonadotropin u samic (34). Niektóre badania wskazują na hamujący wpływ nesfatyny-1 podawanej icv na oś podwzgórze-przysadka-gonady, o czym świadczy zmniejszenie ekspresji mRNA GnRH w podwzgórzu i mRNA FSH oraz LH w przysadce mózgowej (32). Podobne zmiany zaobserwowano również u ryb po obwodowym podaniu nesfatyny-1 (42).

Niektórzy autorzy wyrażają pogląd, iż nesfatyna-1 jest istotnym czynnikiem w rozwoju zespołu policystycznych jajników (polycystic ovary syndrome, PCOS) u kobiet, któremu towarzyszą: otyłość, insulinooporność i podwyższone stężenie androgenów, niemniej wyniki badań w tym zakresie nie są jednoznaczne, gdyż wskazują na podwyższenie (2) lub obniżenie (19) stężenia hormonu we krwi.

Podobnie jak u samic, NUCB2/nesfatyna-1 wydaje się regulować funkcje rozrodcze samców. Ekspresję mRNA NUCB2 i obecność białka NUCB2/nesfatyny-1 stwierdzono w śródmiąższowych dojrzałych komórkach Leydiga myszy, szczurów i ludzi (35). Istotny wzrost poziomu NUCB2/nesfatyny-1 w jądrach stwierdza się wraz ze wzrostem stopnia dojrzałości płciowej (35) (ryc. 1). Jądrowa ekspresja NUCB2/nesfatyny-1 ulega zwiększeniu pod wpływem LH, zaś nesfatyna-1 pochodzenia jądrowego wywiera pozytywny efekt sprzężenia zwrotnego na przysadkę w zakresie uwalniania LH. Ponadto stwierdzono, że nesfatyna-1 zwiększa wydzielanie testosteronu w komórkach jądra szczura *in vitro* (34), a z kolei testosteron u rozwijających się szczurów płci męskiej wpływa na

poziom ekspresji mRNA NUCB2 w tkance tłuszczowej i żołądka (83).

Wpływ nesfatyny-1 na pobieranie wody

W badaniach przeprowadzonych na szczurach zaobserwowano spadek podwzgórzowej ekspresji nesfatyny-1 w odpowiedzi na pozbawienie zwierząt dostępu do wody w ciągu nocy, nawet przy stałym dostępie do pożywienia (110). Dokomorowe podanie nesfatyny-1 zmniejsza przyjmowanie wody, przy czym efekt ten zaobserwowano również w warunkach hipertonii, po podaniu angiotensyny II czy też przywróceniu zwierzętom dostępu do wody po wcześniejszym jej ograniczeniu (110) (ryc. 1). Stwierdzono ponadto, że podanie antysensownego nukleotydu (ASO) znacząco zmniejsza jej poziom w PVN i powoduje nadmierną reakcję pobierania wody przez zwierzęta w odpowiedzi na angiotensynę II (110). Interesującym faktem jest to, że hamujący wpływ nesfatyny-1 na pobieranie wody wydaje się niezwiązany z jej oddziaływaniem anoreksygenym, ponieważ do zahamowania pobierania wody przy podawaniu icv konieczne są znacznie większe dawki hormonu. Jednakże podanie nesfatyny-1 bezpośrednio do narządu podsklepieniowego (subfornical organ, SFO) w niskiej dawce, podobnej do tej, która hamuje przyjmowanie pokarmu, silnie stymuluje pobieranie wody (67). Efekt ten jest niezależny od szlaku angiotensynergicznego i nie jest powiązany z przyjmowaniem pokarmu (67). Nesfatyna-1 zarówno podawana icv (67), jak i *in vitro* (57) aktywuje neurony SFO, co sugeruje, że może być ważnym składnikiem podwzgórzowych mechanizmów kontrolujących homeostazę płynów i elektrolitów, niemniej stwierdzenie, czy na pewno odgrywa fizjologiczną rolę w tych procesach wymaga dalszych badań (ryc. 1).

Anatomiczna lokalizacja neuronów wykazujących ekspresję nesfatyny-1 oraz współwystępowanie z innymi neurotransmiterami w CUN wskazują, że jej fizjologiczna rola dotyczy nie tylko regulacji przyjmowania pokarmu, lecz także regulacji neuroendokrynnej oraz autonomicznej kontroli narządów wewnętrznych i reakcji behawioralnych (28, 37). Nesfatyna-1 oddziałuje na funkcje przewodu pokarmowego oraz układu sercowo-naczyniowego, jak również odgrywa istotną rolę w regulacji pobierania wody, snu i funkcji rozrodczych. Uczestniczy w kontroli metabolicznej organizmu, regulacji bilansu energetycznego i temperatury ciała, jak również rozwoju otyłości. Niemniej zarówno główne źródło nesfatyny-1 w krążeniu, jak i dokładne mechanizmy jej działania nie są dokładnie poznane. Biorąc jednakże pod uwagę pleiotropowe oddziaływanie nesfatyny-1, zależności pomiędzy stopniem otyśnięcia organizmu a ryzykiem występowania różnych schorzeń oraz wzrost ekspresji nesfatyny-1 w adipocytach wraz z rozwojem otyłości można przypuszczać, że w najbliższym czasie będzie ona brana pod uwagę jako istotny czynnik w rozwoju, a być może i leczeniu różnych schorzeń.

Piśmiennictwo

1. Abici A., Catli G., Anik A., Kume T., Bober E.: The relation of serum nesfatin-1 level with metabolic and clinical parameters in obese and healthy children. *Pediatric Diabetes* 2013, 14, 3, 189-195.
2. Ademoglu E. N., Gorar S., Carhuglu A., Yazici H., Dellal F. D., Berberoglu Z., Akdeniz D., Uysal S., Karakurt F.: Plasma nesfatin-1 level are increased in patients with polycystic ovary syndrome. *J. Endocrinol. Invest.* 2014, 37, 715-719.
3. Angelone T., Filice E., Pasqua T., Amodio N., Galluccio M., Montesanti G., Quintieri A. M., Cerra M. C.: Nesfatin-1 as a novel cardiac peptide: identification, functional characterization, and protection against ischemia/reperfusion injury. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013, 70, 495-509.
4. Anwar G. M., Yamamah G., Ibrahim A., El-Lebedy D., Farid T. M., Mahmoud R.: Nesfatin-1 in childhood and adolescent obesity and its association with food intake, body composition and insulin resistance. *Reg. Pep.* 2014, 188, 21-24.
5. Atsuchi K., Asakawa A., Ushikai M., Ataka K., Tsai M., Koyama K., Yuki S., Ikuo K., Mineko F., Akio I.: Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport* 2010, 21, 1008-1011.
6. Ayada C., Turgut G., Turgut S., Guclu Z.: The effect of chronic peripheral nesfatin-1 application on blood pressure in normal and chronic restraint stressed rats: related with circulating level of blood pressure regulators. *Gen. Physiol. Biophys.* 2015, 34, 81-88.
7. Aydin S.: The presence of the peptides apelin, ghrelin and nesfatin-1 in the human breast milk, and the lowering of their levels in patients with gestational diabetes mellitus. *Peptides* 2010, 31, 2236-2240.
8. Aydin S., Dag E., Ozkan Y., Erman F., Dagli A. F., Kilic N., Sahin I., Karatas F., Yoldas T., Barim A. O., Kendir Y.: Nesfatin-1 and ghrelin levels in serum and saliva of epileptic patients: hormonal changes can have a major effect on seizure disorders. *Mol. Cell. Biochem.* 2009, 328, 49-56.
9. Bonnet M. S., Djelloul M., Tillement V., Tardivel C., Mounien L., Trouslard J., Troadec J.-D., Dallaporta M.: Central NUCB2/nesfatin-1-expressing neurons belong to the hypothalamic-brainstem circuitry activated by hypoglycaemia. *J. Neuroendocrinol.* 2013, 25, 1, 1-13.
10. Brailoiu G. C., Dun S. L., Brailoiu E., Inan S., Yang J., Chang J. K., Dun N. J.: Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinol.* 2007, 148, 5088-5094.
11. Bundzikova-Osacka J., Ghosal S., Packard B. A., Ulrich-Lai Y. M., Herman J. P.: Role of nucleus of the solitary tract noradrenergic neurons in post-stress cardiovascular and hormonal control in male rats. *Stress* 2015, 18, 221-232.
12. Butler A. A.: More news about NUCB2/nesfatin-1: a new factor in the hypothalamic control of glucose homeostasis? *Diabetes* 2012, 61, 1920-1922.
13. Catli G., Abici A., Bober A. A. E.: Low serum nesfatin-1 levels may be a contributing factor for monogenic obesity due to prohormone convertase 1 deficiency. *Med. Hypothesis* 2013, 81, 2, 172-174.
14. Cano G., Passerin A. M., Schiltz J. C., Card J. P., Morrison S. F., Sved A. F.: Anatomical substrates for the central control of sympathetic outflow to interscapular adipose tissue during cold exposure. *J. Comp. Neurol.* 2003, 460, 303-326.
15. Chen X., Dong J., Jiang Z. Y.: Nesfatin-1 influences the excitability of glucosensing neurons in the hypothalamic nuclei and inhibits the food intake. *Regul. Pept.* 2012, 177, 21-26.
16. Copinschi G., Leproult R., Spiegel K.: The important role of sleep in metabolism. *Front. Horm. Res.* 2014, 42, 59-72.
17. Coughlin J. W., Smith M. T.: Sleep, obesity, and weight loss in adults: is there rationale for providing sleep interventions in the treatment of obesity. *International Rev. Psych.* 2014, 26, 177-188.
18. Dai H., Li X., He T., Wang Y., Wang Z., Wang S., Xing M., Sun W., Ding H.: Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with acute myocardial infarction. *Peptides* 2013, 46, 167-171.
19. Deniz R., Gurates B., Aydin A., Celik H., Sahin I., Baykus Y., Catak Z., Aksoy A., Citil C., Gungor S.: Nesfatin and other hormone alterations in polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2012, 42, 694-699.
20. Diggs-Andrews K. A., Zhang X., Song Z., Daphna-Iken D., Routh V. H., Fisher S. J.: Brain insulin action regulates hypothalamic glucose sensing and the counterregulatory response to hypoglycemia. *Diabetes* 2010, 59, 2271-2280.
21. Dong J., Guan H. Z., Jiang Z. Y., Chen X.: Nesfatin-1 influences the excitability of glucosensing neurons in the dorsal vagal complex and inhibits food intake. *PLoS ONE* 2014, 9(6):e98967.
22. Dong J., Xu H., Wang P.-F., Cai G.-J., Song H.-F., Wang C.-C., Dong Z.-T., Ju Y.-J., Jiang Z.-Y.: Nesfatin-1 stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in STZ-induced type 2 diabetic mice. *PLoS* 2013, 8(12):e83397.

23. Erdos B., Clifton R. R., Liu M., Li H., McCowan M. L., Sumners C., Scheuer D. A.: Novel mechanism within the paraventricular nucleus reduces both blood pressure and hypothalamic pituitary-adrenal axis responses to acute stress. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2015, 309, 4, 634-645.
24. Fan W., Voss A. A., Cao W. H., Morrison S. F.: Regulation of thermogenesis by the central melanocortin system. *Peptides* 2005, 26, 1800-1813.
25. Feijoo-Bandin S., Rodriguez-Penas D., Garcia-Rua V., Mosquera-Leal A., Otero M. F., Pereira E., Rubio J., Martinez I., Seoane L. M., Calaza O. G. M., Garcia-Caballero T., Portoles M., Rosello-Lleti E., Dieguez C., Rivera M., Gonzalez-Juanatey J. R., Lago F.: Nesfatin-1 in human and murine cardiomyocytes: synthesis, secretion, and mobilization of GLUT-4. *Endocrinol.* 2013, 154, 4757-4767.
26. Fernandez-Fernandez R., Martini A. C., Navarro V. M., Castellano J. M., Dieguez C., Aguilar E., Pinilla L., Tena-Sempere M.: Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2006, 254-255, 127-132.
27. Foo K. S., Brauner H., Ostenson C.-O., Broberger C.: Nucleobindin-2/nesfatin in the endocrine pancreas: distribution and relationship to glycaemic state. *J. Endocrinol.* 2010, 204, 255-263.
28. Foo K. S., Brismar H., Broberger C.: Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008, 156, 563-579.
29. Fort P., Salvart D., Hanriot L., Jego S., Shimizu H., Hashimoto K., Mori M., Luppi P. H.: The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008, 155, 174-181.
30. Gaige S., Bonnet M. S., Tardivel C., Pinton P., Trouslard J., Jean A., Guzylack L., Troadec J.-D., Dallaporta M.: c-Fos immunoreactivity in the pig brain following deoxynivalenol intoxication: focus on NUCB2/nesfatin-1 expressing neurons. *Neurotoxicology* 2013, 34, 135-149.
31. Gantulga D., Maejima Y., Nakata M., Yada T.: Glucose and insulin induce Ca^{2+} signaling in nesfatin-1 neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2012, 420, 4, 811-815.
32. Gao X., Zhang K., Song M., Li X., Luo L., Tian Y., Zhang Y., Li Y., Zhang X., Ling Y., Fang F., Liu Y.: Role of nesfatin-1 in the reproductive axis of male rat. *Sci. Rep.* 2016, 6, 32877.
33. Garcia-Galiano D., Navarro V. M., Gaytan F., Tena-Sempere M.: Expanding roles of NUCB2/nesfatin-1 in neuroendocrine regulation. *J. Mol. Endocrinol.* 2010, 45, 281-290.
34. Garcia-Galiano D., Navarro V. M., Roa J., Ruiz-Pino F., Sanchez-Garrido M. A., Pineda R., Castellano J. M., Romero M., Aguilar E., Gaytan F., Dieguez C., Pinilla L., Tena-Sempere M.: The anorexigenic neuropeptide, nesfatin-1, is indispensable for normal puberty onset in the female rat. *J. Neurosci.* 2010, 30, 7783-7792.
35. Garcia-Galiano D., Pineda R., Ilhan T., Castellano J. M., Ruiz-Pino F., Sanchez-Garrido M. A., Vazquez M. J., Sangiao-Alvarellos S., Romero-Ruiz A., Dieguez L. P. C., Gaytan F., Tena-Sempere M.: Cellular distribution, regulated expression, and functional role of the anorexigenic peptide, NUCB2/nesfatin-1, in the testis. *Endocrinol.* 2012, 153, 1959-1971.
36. Garcia-Garcia F., Juarez-Aguilar E., Santiago-Garcia J., Cardinali D. P.: Ghrelin and its interactions with growth hormone, leptin and orexins: implications for the sleep-wake cycle and metabolism. *Sleep. Med. Rev.* 2014, 18, 89-97.
37. Goebel M., Stengel A., Wang L., Lambrecht N. W. G., Taché Y.: Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci. Lett.* 2009, 452, 241-246.
38. Goebel M., Stengel A., Wang L., Taché Y.: Central nesfatin-1 reduces the nocturnal food intake in mice by reducing meal size and increasing inter-meal intervals. *Peptides* 2011, 32, 36-43.
39. Gonkowski S., Rychlik A., Nowicki M., Nieradka R., Bulc M., Calka J.: A population of nesfatin 1-like immunoreactive (LI) cells in the mucosal layer of the canine digestive tract. *Res. Vet. Sci.* 2012, 93, 1119-1121.
40. Gonzalez R., Kerbel B., Chun A., Unniappan S.: Molecular, cellular and physiological evidences for the anorexigenic actions of nesfatin-1 in goldfish. *PLoS ONE* 2010, 5(12): e15201.
41. Gonzalez R., Perry R. L. S., Gaidhu M. P., Tsushima R. G., Ceddia R. B., Unniappan S.: Nutrient responsive nesfatin-1 regulates energy balance and induces glucose-stimulated insulin secretion in rats. *Endocrinol.* 2011, 152, 10, 3628-3637.
42. Gonzalez R., Shepperd E., Thirupugazh V., Lohan S., Grey C. L., Chang J. P., Unniappan S.: Nesfatin-1 regulates the hypothalamo-pituitary-ovarian axis of fish. *Biol. Reprod.* 2012, 87 (4), 84.
43. Gonzalez R., Tiwari A., Unniappan S.: Pancreatic beta cells colocalize insulin and pronesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 381, 643-648.
44. Guo F.-F., Xu L., Gao S.-L., Sun X.-R., Li Z.-L., Gong Y.-L.: The effects of nesfatin-1 in the paraventricular nucleus on gastric motility and its potential regulation by the lateral hypothalamic area in rats. *JNC* 2015, 132, 3, 266-275.
45. Hill J. W., Elmquist J. K., Elias C. F.: Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2008, 294, 827-832.
46. Inhoff T., Stengel A., Peter L., Goebel M., Tache Y., Bannert N., Wiedenmann B., Klapp B. F., Monnikes H., Kobelt P.: Novel insight in distribution of nesfatin-1 and phosphor mTOR in the arcuate nucleus of the hypothalamus of rats. *Peptides* 2010, 31, 257-262.
47. Iwasaki Y., Nakabayashi H., Kakei M., Shimizu H., Mori M., Yada T.: Nesfatin-1 evokes Ca^{2+} signaling in isolated vagal afferent neurons via Ca^{2+} influx through N-type channels. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2009, 390, 3, 958-962.
48. Jego S., Salvart D., Renouard L., Mori M., Goutagny R., Luppi P.-H., Fort P.: Tuberal hypothalamic neurons secreting the satiety molecule nesfatin-1 are critically involved in paradoxical (REM) sleep homeostasis. *PLoS* 2012, 7(12):e52525.
49. Jiang L., Bao J., Zhou X., Xiong Y., Wu L.: Increased serum levels and chondrocyte expression of nesfatin-1 in patients with osteoarthritis and its relation with BMI, hsCRP, and IL-18. *Mediators Inflamm.* 2013, 631251.
50. Kawabe T., Kawabe K., Sapru H. N.: Cardiovascular responses to chemical stimulation of the hypothalamic arcuate nucleus in the rat: role of the hypothalamic paraventricular nucleus. *PLoS One* 2012, 7(9):e45180.
51. Kerbel B., Unniappan S.: Nesfatin-1 suppresses energy intake, co-localises ghrelin in the brain and gut, and alters ghrelin, cholecystokinin and orexin mRNA expression in goldfish. *J. Neuroendocrinol.* 2012, 24, 366-377.
52. Kim J., Chung Y., Kim H., Im E., Lee H., Yang H.: The tissue distribution of nesfatin 1/NUCB2 in mouse. *Dev. Reprod.* 2014, 18, 301-309.
53. Kohno D., Nakata M., Maejima Y., Shimizu H., Sedbazar U., Yoshida N., Dezaki K., Onaka T., Mori M., Yada T.: Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinol.* 2008, 149, 1295-1301.
54. Kolgazi M., Cantali-Ozturk C., Deniz R., Ozdemir-Kumral Z. N., Yuksel M., Sirvanci S., Yegen B. C.: Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. *JSR* 2015, 193, 1, 111-118.
55. Konczol K., Pinter O., Ferenczi S., Varga J., Kovacs K., Palkovits M., Zelena D., Toth Z. E.: Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *Int. J. Obesity* 2012, 36, 1514-1521.
56. Kong W. M., Stanley S., Gardiner J., Abbott C., Murphy K., Seth A., Connolly I., Ghatei M., Stephens D., Bloom S.: A role for arcuate cocaine and amphetamine-regulated transcript in hyperphagia, thermogenesis, and cold adaptation. *Faseb. J.* 2003, 17, 1688-1690.
57. Kuksis M., Ferguson A. V.: Cellular actions of nesfatin-1 in the subfornical organ. *J. Neuroendocrin.* 2014, 26, 237-246.
58. Lechan R. M., Fekete C.: The TRH neuron: a hypothalamic integrator of energy metabolism. *Prog. Brain Res.* 2006, 153, 209-235.
59. Lents C. A., Barb C. R., Hausman G. J., Nonneman D., Heidorn N. L., Cisse R. S., Azain M. J.: Effects of nesfatin-1 on food intake and LH secretion in prepubertal gilts and genomic association of the porcine NUCB2 gene with growth traits. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2013, 45, 89-97.
60. Li Q.-C., Wang H.-Y., Chen X.-Y., Guan H.-Z., Jiang Z.-Y.: Fasting plasma levels of nesfatin-1 in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and the nutrient-related fluctuation of nesfatin-1 level in normal humans. *Regul. Pept.* 2010, 159, 72-77.
61. Li Z., Gao L., Tang H., Yin Y., Xiang X., Li Y., Zhai J., Mulholland M., Zhang W.: Peripheral effects on nesfatin-1 on glucose homeostasis. *PLoS* 2013, 8(8):e71513.
62. Lin F., Zhou C., Chen H., Wu H., Xin Z., Liu J., Gao Y., Yuan D., Wang T., Wei R., Chen D., Yang S., Wang Y., Pu Y., Li Z.: Molecular characterization, tissue distribution and feeding related changes of NUCB2A/nesfatin-1 in Ya-fish (*Schizothorax prenanti*). *Gene* 2014, 536, 238-246.
63. Maejima Y., Sedbazar U., Suyama S., Kohno D., Onaka T., Takano E., Yoshida N., Koike M., Uchiyama Y., Fujiwara K., Yashiro T., Horvath T. L., Dietrich M. O., Tanaka S., Dezaki K., Oh-I S., Hashimoto K., Shimizu H., Nakata M., Mori M., Yada T.: Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. *Cell. Metab.* 2009, 10, 355-365.
64. Mazza R., Gattuso A., Filice M., Cantafio P., Cerra M. C., Angelone T., Imbrogno S.: Nesfatin-1 as a new positive inotrope in the goldfish (*Carassius auratus*) heart. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2015, 224, 160-167.
65. Miura K., Titani K., Kurosawa Y., Kanai Y.: Molecular cloning of nucleobindin, a novel DNA-binding protein that contains both a signal peptide and a leucine zipper structure. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1992, 187, 375-380.
66. Miyata S., Yamada N., Kawada T.: Possible involvement of hypothalamic nucleobindin-2 in hyperphagic feeding in Tsumura Suzuki obese diabetes mice. *Biol. Pharm. Bull.* 2012, 35, 10, 1784-1793.
67. Moreau J. M., Cirtello J.: Nesfatin-1 induces Fos expression and elicits dipogenic responses in subfornical organ. *Behav. Brain Res.* 2013, 250, 343-350.
68. Mortazavi S., Gonzalez R., Ceddia R., Unniappan S.: Long-term infusion of nesfatin-1 causes a sustained regulation of whole-body energy homeostasis of male Fischer 344 rats. *Front. Cell Dev. Biol.* 2015, 3, 22.
69. Nakamura K., Morrison S. F.: Central efferent pathways mediating skin cooling-evoked sympathetic thermogenesis in brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.* 2007, 292, 1, 127-136.
70. Nakata M., Manaka K., Yamamoto S., Mori M., Yada T.: Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca^{2+} influx through L-type channels in mouse islet β -cells. *Endocrine J.* 2011, 58, 4, 305-313.

71. Oh-I S., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M.: Identification of nesfatin 1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006, 443, 709-712.
72. Okere B., Xu L., Roubos E. W., Sonetti D., Kozicz T.: Restraint stress alters the secretory activity of neurons co-expressing urocortin-1, cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide and nesfatin-1 in the mouse Edinger-Westphal nucleus. *Brain Res.* 2010, 1317, 92-99.
73. Osaki A., Shimizu H.: Peripheral administration of nesfatin-1 increases blood pressure in mice. *Hypertension Res.* 2014, 37, 185-186.
74. Ozkan Y., Suay E., Aydin S., Sahin I., Timurkan M., Citil C., Kalayci M., Yilmaz M., Aksoy A., Catak Z.: Acylated and desacylated ghrelin, preptin, leptin, and nesfatin-1 peptide changes related to the body mass index. *Int. J. Endocrin.* 2013, 236085.
75. Piya M. K., McTernan P. G., Kumar S.: Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin. *J. Endocrinol.* 2013, 216, 1-15.
76. Price C. J., Samson W. K., Ferguson A. V.: Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain Res.* 2008, 1230, 99-106.
77. Ramanjaneya M., Addison M., Randeve H. S.: Possible role of NUCB2/nesfatin-1 in adipogenesis. *Curr. Pharm. Des.* 2013, 19, 39, 6976-6980.
78. Ramanjaneya M., Chen J., Brown J. E., Tripathi G., Hallschmid M., Patel S., Kern W., E. W., Lehnert H.: Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinol.* 2010, 151, 3169-3180.
79. Riva M., Nitert M. D., Voss U., Sathanoori R., Lindqvist A., Ling C., Wierup N.: Nesfatin-1 stimulates glucagon and insulin secretion and beta cell NUCB2 is reduced in human type 2 diabetic subjects. *Cell Tissue Res.* 2011, 346, 3, 393-405.
80. Sahin F. K., Sahin S. B., Ural U. M., Cure M. C., Senturk S., Tekin Y. B., Balik G., Cure E., Yuce S., Kirbas A.: Nesfatin-1 and vitamin D levels may be associated with systolic and diastolic blood pressure values and hearth rate in polycystic ovary syndrome. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2015, 15, 3, 57-63.
81. Sakurai T.: Hypothalamic neuropeptides implicated in the regulation of sleep/wakefulness states. *Brain Nerve* 2012, 64, 629-637.
82. Senejani A. G., Gaupale T. C., Unniappan S., Bhargava S.: Nesfatin-1/nucleobindin-2 like immunoreactivity in the olfactory system, brain and pituitary of frog, *Microhyla ornata*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2014, 202, 8-14.
83. Senin L. L., Al-Massadi O., Barja-Fernandez S., Folgueira C., Castela C., Tovar S. A., Leis R., Lago F., Baltar J., Baamonde I., Dieguez C., Casanueva F. F., Seoane L. M.: Regulation of NUCB2/nesfatin-1 production in rat's stomach and adipose tissue is dependent on age, testosterone levels and lactating status. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015, 41, 105-112.
84. Shimizu H., Oh-I S., Hashimoto K., Nakata M., Yamamoto S., Yoshida N., Eguchi H., Kato I., Inoue K., Satoh T., Okada S., Yamada M., Yada T., Mori M.: Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinol.* 2009, 150, 662-671.
85. Shimizu H., Oh-I S., Okada S., Mori M.: Nesfatin-1: An Overview and Future Clinical Application. *Endocrine Journal* 2009, 56, 4, 537-54.
86. Stengel A.: Nesfatin-1 – More than a food intake regulatory peptide. *Peptides* 2015, 72, 175-183.
87. Stengel A., Goebel M., Tache Y.: Nesfatin-1: a novel inhibitory regulator of food intake and body weight. *Obes. Rev.* 2011, 12, 261-271.
88. Stengel A., Goebel M., Wang L., Rivier J., Kobelt P., Monnikes H., Lambrecht N. W., Tache Y.: Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinol.* 2009, 150, 4911-4919.
89. Stengel A., Goebel M., Wang L., Tache Y.: Ghrelin, des-acyl ghrelin and nesfatin-1 in gastric X/A-like cells: Role as regulators of food intake and body weight. *Peptides* 2010, 31, 2, 357-369.
90. Stengel A., Goebel M., Yakubov I., Wang L., Witcher D., Coskun T., Tache Y., Sachs G., Lambrecht N. W.: Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinol.* 2009, 150, 232-238.
91. Stengel A., Hofmann T., Goebel-Stengel M., Lembke V., Ahnis A., Elbelt U., Lambrecht N. W. G., Ordemann J., Klapp B. F., Kobelt P.: Ghrelin and NUCB2/nesfatin-1 are expressed in the same gastric cell and differentially correlated with body mass index in obese subjects. *Histochem. Cell Biol.* 2013, 139, 909-918.
92. Su Y., Zhang J., Tang Y., Bi F., Liu J. N.: The novel function of nesfatin-1: anti hyperglycemia. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2010, 391, 1039-1042.
93. Szlachet A., Śliwowski Z., Krzysiek-Mączka G., Majka J., Surmiak M., Pajdo R., Drozdowicz D., Konturek S. J., Brzozowski T.: New satiety hormone nesfatin-1 protects gastric mucosa against stress-induced injury: Mechanistic roles of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and vanilloid receptors. *Peptides* 2013, 49, 9-20.
94. Tadross J. A., Patterson M., Wynne K. J., Patel S., Suzuki K., Ghati M. A., Bloom S. R.: Nesfatin suppresses feeding and stimulates the hypothalamo-pituitary-gonadal axis. *Endocrine J.* 2010, 57 (Suppl. 2) S355-S648. Abstract P3-1-3.
95. Tagaya Y., Miura A., Okada S., Ohshima K., Mori M.: Nucleobindin-2 is a positive modulator of EGF-dependent signals leading to enhancement of cell growth and suppression of adipocyte differentiation. *Endocrinol.* 2012, 153, 7, 3308-3319.
96. Tan B. K., Hallschmid M., Kern W., Lehnert H., Randeve S.: Decreased cerebrospinal fluid/plasma ratio of the novel satiety molecule, nesfatin-1/NUCB-2, in obese humans: evidence of nesfatin-1/NUCB-2 resistance and implications for obesity treatment. *JCEM* 2011, 96, 4, 669-673.
97. Tanida M., Mori M.: Nesfatin-1 stimulates renal sympathetic nerve activity in rats. *Neuroreport* 2011, 22, 6, 309-312.
98. Tian Z. B., Deng R. J., Sun G. R., Wei L. Z., Kong X. J., Ding X. L., Jing X., Zhang C. P., Ge Y. L.: Expression of gastrointestinal nesfatin-1 and gastric emptying in ventromedial hypothalamic nucleus- and ventrolateral hypothalamic nucleus-lesioned rats. *World J. Gastroenterol.* 2014, 20, 22, 6897-6905.
99. Tsuchiya T., Shimizu H., Yamada M., Osaki A., Oh-I S., Ariyama Y., Takahashi H., Okada S., Hashimoto K., Satoh T., Kojima M., Mori M.: Fasting concentrations of nesfatin-1 are negatively correlated with body mass index in non-obese males. *Clinic. Endocrin.* 2010, 73, 4, 484-490.
100. Varricchio E., Russolillo M. G., Russo F., Lombardi V., Paolucci M., Maruccio L.: Expression and immunohistochemical detection of nesfatin-1 in the gastrointestinal tract of Casertana pig. *Acta Histochemica* 2014, 116, 4, 583-587.
101. Vas S., Adori C., Konczol K., Katai Z., Pap D., Papp R. S., Bagdy G., Palkovits M., Toth Z.: Nesfatin-1/NUCB2 as a potential new element of sleep regulation in rats. *PLoS ONE* 2013, 8, 4.
102. Voss U., Riva M., Dekker N. M. N., Ling C., Lindqvist A., Wierup N.: Nesfatin-1 stimulates insulin secretion, inhibits glucagon secretion and is expressed in human and rodent beta cells. *Diabetologia* 2010, 53, (Suppl. 1), s. 222.
103. Wang Q., Guo F., Sun X., Gao S., Li Z., Gong Y., Xu L.: Effects of exogenous nesfatin-1 on gastric distention-sensitive neurons in the central nucleus of the amygdala and gastric motility in rats. *Neurosci. Lett.* 2014, 582, 65-70.
104. Watanabe A., Mochiki E., Kimura A., Kogure N., Yanai M., Ogawa A., Toyomasu Y., Ogata K., Ohno T., Suzuki H., Kuwano H.: Nesfatin-1 suppresses gastric contractions and inhibits digestive migrating contractions in conscious dogs. *Dig. Dis. Sci.* 2015, 60, 6, 1595-1602.
105. Wernecke K., Lamprecht I., Jöhren O., Lehnert H., Schulz C.: Nesfatin-1 increases energy expenditure and reduces food intake in rats. *Obesity (Silver Spring)* 2014, 22, 1662-1668.
106. Wu D., Yang M., Chen Y., Jia Y., Ma Z. A., Boden G., Li L., Yang G.: Hypothalamic nesfatin-1/NUCB2 knockdown augments hepatic gluconeogenesis that is correlated with inhibition of mTOR-STAT3 signaling pathway in rats. *Diabetes* 2014, 63, 4, 1234-1247.
107. Xia Z. F., Fritze D. M., Li J. Y., Chai B., Zhang C., Zhang W., Mulholland M. W.: Nesfatin-1 inhibits gastric acid secretion via a central vagal mechanism in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2012, 303, 570-577.
108. Yamawaki H., Takahashi M., Mukohda M., Morita T., Okada M., Hara Y.: A novel adipocytokine, nesfatin-1 modulates peripheral arterial contractility and blood pressure in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012, 418, 4, 676-681.
109. Yang M., Zhang Z., Wang C., Li K., Li S., Boden G., Li L., Yang G.: Nesfatin-1 action in the brain increases insulin sensitivity through Akt/AMPK/TORC2 pathway in diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 2012, 61, 1959-1968.
110. Yosten G. L., Redlinger L., Samson W. K.: Evidence for a role of endogenous nesfatin-1 in the control of water drinking. *J. Neuroendocrinol.* 2012, 24, 1078-1084.
111. Yosten G. L., Samson W. K.: Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009, 297, 330-336.
112. Yosten G. L., Samson W. K.: The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010, 298, 1642-1647.
113. Zegers D., Beckers S., Freitas F., Jennes K., Van Camp J. K., Martens I. L., Van Hoorenbeeck K., Rooman R. P., Desager K. N., Massa G., Van Gaal L. f., Van Hul W.: Identification of mutations in the NUCB2/nesfatin gene in children with severe obesity. *Molec. Genetics Metab.* 2012, 107, 4, 729-734.
114. Zegers D., Beckers S., Mertens I. L., Van Gaal L. F., Van Hul W.: Association between polymorphisms of the Nesfatin gene, NUCB2, and obesity in men. *Molec. Genetics Metab* 2011, 103, 3, 282-286.
115. Zhang A.-Q.: Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J. Gastroenterol.* 2010, 16, 1735-1741.
116. Zhang Y., Shui X., Lian X., Wang G.: Serum and synovial fluid nesfatin-1 concentration is associated with radiographic severity of knee osteoarthritis. *Med. Sci. Monit.* 2015, 21, 1078-1082.
117. Zhao Y., Ma X., Wang Q., Zhou Y., Zhang Y., Wu L., Ji H., Qin G., Lu J., Bi Y., Ning G.: Nesfatin-1 correlates with hypertension in overweight or obese Han Chinese population. *Clin. Exp. Hypertension* 2014, 37, 1, 51-56.